

L'appareil reproducteur mâle des glossines (*diptera-muscidae*)

LES ETAPES DE SA FORMATION CHEZ LA PUPE LA SPERMATOGENESE

par J. ITARD

RESUME

L'auteur a entrepris une étude sur la formation des organes génitaux mâles et la spermatogénèse chez quatre espèces de glossines élevées à Maisons-Alfort. La larve, au moment de la ponte, possède deux testicules et un disque imaginal génital. Au cours de la période pupale, qui dure en moyenne 30 jours, les testicules s'allongent et s'enroulent sur eux-mêmes, tandis que les gonoductes, les glandes annexes et l'appareil phallique s'organisent à partir du disque génital. La méiose se produit entre les 6^e et 9^e jours et les spermatozoïdes sont mûrs vers le 20^e jour. Lorsque le mâle adulte éclôt, il possède un stock de spermatozoïdes qui ne sera plus renouvelé au cours de la vie imaginale.

I. INTRODUCTION

En novembre 1967 un groupe scientifique réuni à Genève (9), sous l'égide de l'O.M.S., pour faire le point des connaissances actuelles sur la cytogénétique des vecteurs des maladies humaines a, dans ses recommandations, mis l'accent sur l'intérêt que présente l'étude de la gamétogénèse des insectes vecteurs :

« Bien que l'on dispose de certaines informations sur la gamétogénèse des vecteurs, la nature fondamentale de ce processus est telle que les recherches de bases doivent être poursuivies. La plupart des mécanismes potentiellement importants dans les opérations de lutte ont été d'abord découverts au cours des études sur la gamétogénèse ... Le groupe recommande que les recherches sur la gamétogénèse soient encouragées ... »

Le groupe scientifique a en outre précisé que, si des données ont été obtenues sur la gamétogénèse de plusieurs insectes vecteurs (mouche domestique, certains moustiques, cer-

tains hémiptères, quelques anoploures), de nombreuses autres espèces devraient faire l'objet de recherches dans ce domaine. C'est ainsi que chez la mouche tsé-tsé, si le cycle de l'oogénèse de la femelle adulte a été bien étudié, on ne dispose pratiquement d'aucune information sur la gamétogénèse et le développement des organes génitaux chez la larve et la pupa.

Les études que nous poursuivons depuis quelques années sur la cytogénétique des glossines, après nous avoir permis de définir le caryotype des cellules somatiques de *Glossina tachinoides*, *G. morsitans morsitans*, *G. austeni* et *G. fuscipes fuscipes* (3-4-5), nous ont amené à rechercher les chromosomes en méiose et, par voie de conséquence, à étudier, chez la pupa mâle, le développement des organes génitaux.

C'est le résultat de ces recherches que nous présentons ici. Après avoir, dans un premier chapitre, rappelé l'anatomie de l'appareil génital mâle de la glossine adulte, nous décrirons

dans le second chapitre la formation et le développement de cet appareil chez la pupe. Dans la troisième partie de ce travail, nous étudierons le processus de la spermatogénèse chez cet insecte.

Les recherches ont été effectuées chez *G. tachinoides* essentiellement; une étude comparative a été également réalisée chez *G. morsitans morsitans*, *G. austeni* et *G. fuscipes fuscipes*. Les insectes proviennent de l'élevage réalisé depuis plusieurs années au laboratoire d'Entomologie de l'Institut d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, à Maisons-Alfort (6).

II. L'APPAREIL REPRODUCTEUR MALE DES GLOSSINES ADULTES

Cet appareil, qui a été décrit par MINCHIN (8), STUHLMANN (11) et ROUBAUD (10) au début du siècle et dont BARROS MACHADO (7) a, en 1954, précisé la morphologie de la partie terminale, comprend une paire de testicules pourvus chacun d'un canal déférent convergeant en un canal déférent commun, impair, qui aboutit à l'appareil phallique. Au point de jonction des canaux déférents débouche une paire de glandes annexes (fig. 1).

Chaque testicule est formé d'un tube enroulé sur lui-même et pigmenté en brun clair. La partie initiale du testicule se présente toutefois sous l'aspect d'un tube mince, libre, transparent, non pigmenté, ne contenant pas de spermatozoïdes et ayant environ 800 à 1.000 μ de long sur 25 μ à 30 μ de large chez *G. morsitans morsitans* et *G. fuscipes*. Le tube testiculaire qui y fait suite forme un peloton enveloppé par une coque brunâtre aisément dissociable au moyen de fines aiguilles. Ce tube, qui s'enroule en spirale trois ou quatre fois, a une longueur de 1.500 μ et une largeur de 150 à 200 μ . Il est rempli de spermatozoïdes réunis en groupes compacts, de 40 μ environ de diamètre. Chacun de ces groupes contient de 130 à 150 spermatozoïdes environ.

Les canaux déférents faisant suite au testicule (1.000 μ de long et 45 μ de large) font deux ou trois tours de spires avant de se détacher du peloton testiculaire. Ils se dirigent alors transversalement et d'avant en arrière vers l'axe du corps et forment, à leur point de

jonction, une petite dilatation dans laquelle pénètre la terminaison des glandes annexes, et d'où part le canal déférent commun (*vas deferens conjunctus*, BARROS MACHADO (7), 1954). Celui-ci, dont les parois sont constituées de cellules à gros noyau, alignées en files légèrement obliques par rapport à son grand axe, se dirige, d'avant en arrière, vers l'extrémité postérieure de l'abdomen. Après avoir contourné le rectum en passant au dessus de lui de gauche à droite, il revient en avant, pénètre dans l'appareil phallique où il s'insinue, tout en s'amincissant, entre le sclérite éjaculateur et la vésicule spermatique, et débouche près de l'insertion de celle-ci. Le canal déférent commun a une longueur totale de 2 à 3 mm environ, chez *G. morsitans* et *G. fuscipes*, sur 50 à 60 μ de large.

La vésicule spermatique, à parois chitineuses très minces et transparentes, a une longueur de 250 μ à 300 μ environ chez *G. fuscipes fuscipes*. Elle est située, dans le plan médian de l'appareil phallique, le long de la face postérieure du sclérite éjaculateur, petite pièce chitineuse faisant partie du phallosome et servant d'appui aux muscles qui provoquent l'expulsion du sperme de la vésicule spermatique. La vésicule spermatique, dont l'extrémité antérieure s'appuie sur la face postérieure de la tête du sclérite éjaculateur, s'étend en arrière, parallèlement à celui-ci, presque jusqu'à son extrémité. Elle se continue en avant par le canal éjaculateur (le vrai *ductus ejaculatoris*), qui a près de 300 μ de longueur, chez *G. fuscipes fuscipes*, sur 30 μ environ de large près de la vésicule séminale, et près de 50 μ vers le gonopore. Le canal éjaculateur, formé également de chitine très mince, pénètre dans l'édéage et aboutit au gonopore, ou ouverture du canal éjaculateur, à bords très membraneux et de contour irrégulier (fig. 2).

La vésicule spermatique et la partie terminale du canal déférent commun, situées entre celle-ci et le sclérite éjaculateur, sont enveloppées par un sac musculaire dont les fibres sont dirigées obliquement vers l'extrémité du sclérite éjaculateur. Ce sac, en pressant la vésicule contre le sclérite éjaculateur, fonctionne comme une pompe éjaculatrice.

Les glandes annexes sont constituées par une paire de longs tubes de 7,5 mm de longueur environ, sur 30 à 40 μ de large. Ces tubes, non pigmentés, sont plus ou moins entortillés à

proximité du testicule correspondant. Ils s'élargissent au niveau du tiers moyen et du tiers postérieur, et atteignent à ce point 75 μ de large, puis s'amincissent vers l'extrémité distale (15 μ de large) pour se terminer en une petite sphère de 50 μ environ de diamètre. Leur extrémité antérieure pénètre dans la dilatation formée par la jonction des canaux déférents et l'on peut y suivre leur trajet sur une courte distance. Ces glandes ne contiennent pas de spermatozoïdes. STUHLMANN leur reconnaît une structure glandulaire et les considère, ainsi que ROUBAUD, comme de simples glandes annexes dont la fonction n'est pas encore exactement connue. Leur sécrétion dilue le liquide séminal et doit constituer un milieu favorable à la survie des spermatozoïdes. Elle pourrait en outre jouer un rôle dans le déclenchement de l'ovulation chez la femelle.

III. FORMATION ET DEVELOPPEMENT DE L'APPAREIL GENITAL MALE CHEZ LA PUPE

A. Technique

Les pupes provenant de l'élevage réalisé au laboratoire ont été prélevées à des âges croissants, depuis le jour de ponte (jour 1) jusqu'au 28^e jour inclus. La durée moyenne de pupaison, dans les conditions du laboratoire (25° C et 80 p. 100 d'humidité relative), est, chez les mâles de *G. tachinoides*, espèce qui a été plus particulièrement étudiée, de 29 à 30 jours.

Après lavage au pinceau, l'enveloppe pupale, qui repose sur une lame dans une goutte de solution physiologique, est fendue au bistouri ophtalmologique, sous la loupe binoculaire, sur toute sa longueur et le contenu de la puce est transféré sur une lame propre dans une autre goutte de soluté physiologique. La dissection est effectuée avec de fines aiguilles montées et achevée à l'aide de poils montés sur tige de verre. Une fois les organes bien isolés et débarrassés des ramifications trachéales et du tissu adipeux, la préparation est rincée, au sérum physiologique, à l'aide d'une pipette Pasteur, puis colorée à l'orcéine lacto-propionique pendant 2 heures, rincée à nouveau à l'acide acétique à 50 p. 100; fixée dans quelques gouttes d'alcool à 70° glyciné à 5 p. 100 jusqu'à évaporation de l'alcool et enfin montée dans la glycérine gélatinée (Gélatine 1 - Eau distillée 2 - Glycérine 4, en poids), sur platine

chauffante. Cette technique a l'avantage de ne pas rétracter les organes. La préparation est recouverte d'une lamelle, refroidie à la température du laboratoire, lutée au vernis à ongle incolore et peut ainsi être conservée indéfiniment.

B. Situation des organes génitaux

On distingue aisément, chez une puce de glossine, la région antérieure ou céphalique de la région postérieure, grâce à la présence, à l'extrémité postérieure, des lobes polypneustiques. On peut également reconnaître une face dorsale et une face ventrale. Cette dernière est en effet plus bombée, vers l'extrémité postérieure, que la face dorsale. La puce est constituée de 13 segments séparés par de fins sillons; le treizième segment porte les lobes polypneustiques. Le douzième segment est très étroit sur la face dorsale, et à peine distinct. Il est plus large et plus apparent sur la face ventrale et présente, sur la ligne médiane, près de son bord antérieur, une petite tâche noire, allongée dans le sens antéro-postérieur, qui représente la trace de l'anus (fig. 3).

Chez la puce âgée de 24 heures la partie postérieure de l'intestin moyen, qui fait suite au sac stomacal, se dirige, d'avant en arrière et de haut en bas, vers la paroi ventrale du puparium puis s'infléchit, à la hauteur du 11^e segment, vers le haut, avant de s'amincir progressivement et d'aboutir, par un étranglement brusque, à l'intestin postérieur. Partant de l'intestin moyen, l'intestin postérieur, qui a la forme d'un tube cylindrique de faible diamètre, remonte, d'arrière en avant et de bas en haut, vers la paroi dorsale, puis revient en arrière et s'étend à peu près verticalement de haut en bas jusqu'à l'anus, qui est virtuel. La terminaison de l'intestin postérieur est close et contient une petite pièce chitineuse en forme d'épine. L'origine de l'intestin postérieur est marquée par le point d'insertion des tubes de Malpighi (une paire de chaque côté).

Les testicules sont situés de chaque côté de la partie postérieure de l'intestin moyen et un peu au-dessus d'elle, au niveau du 9^e - 10^e segment. Ils sont allongés dans le sens antéro-postérieur et se prolongent par un très fin canal qui aboutit au disque génital. Celui-ci est placé contre la face interne de la paroi ventrale du puparium, immédiatement en avant de l'anus auquel il est relié (fig. 4 et 5).

C. Etapes du développement des organes génitaux

Chez la pupe âgée de un jour l'appareil génital est constitué par deux testicules situés, ainsi qu'il est dit plus haut, au niveau du 9^e ou 10^e segment, et d'un disque imaginal génital situé ventralement en avant de l'anus. Les testicules ont une forme ovoïde à gros pôle antérieur. L'extrémité postérieure est plus effilée et se prolonge par un tube très fin, non fonctionnel, à lumière apparemment virtuelle, qui se ramifie en 3 ou 4 branches avant d'aboutir au disque génital. Ces tubes sont constitués de cellules embryonnaires allongées, à noyau fusiforme, identiques à celles qui rattachent le disque génital au puparium et à l'anus. Le testicule mesure 500 μ de long sur 300 μ de large au pôle antérieur, chez *G. tachinoides*. Chez *G. morsitans* les testicules sont plus allongés et de forme plus régulière. Ils ont 600 μ environ de long sur 150 à 200 μ de large. Les testicules sont étroitement enveloppés par un tissu adipeux abondant.

Le disque génital a une forme irrégulière, vaguement circulaire. Il mesure environ 500 μ dans le sens antéro-postérieur et 400 μ dans le sens transversal. Il est relativement épais; il repose sur la paroi ventrale du puparium, immédiatement en avant de l'extrémité terminale de l'intestin postérieur auquel il est attaché. Ses faces supérieures et inférieures sont tourmentées, parcourues de replis épais et creusées de sillons plus ou moins étroits (fig. 6 et 23).

On retrouve la même organisation générale jusque vers le 4^e ou 5^e jour. On constate seulement un léger accroissement de la taille des testicules et une ébauche d'organisation du disque génital. En même temps, les testicules se rapprochent de la paroi ventrale (fig. 7).

C'est vers le 5^e jour que la pupe est complètement détachée du puparium, auquel elle n'adhère que par son extrémité postérieure, au niveau des lobes polypneustiques. On distingue nettement, à ce stade, les ébauches des ailes et des pattes, qui ont acquis leur forme générale. Les antennes, les yeux, le proboscis sont en voie de formation. Le tégument de la pupe est très mince, très fragile, non pigmenté. Aucune soie n'est encore visible.

Les testicules se sont encore allongés et mesurent près de 800 à 900 μ de long. Ils

commencent à s'incurver légèrement par leur extrémité postérieure. Le disque génital présente un contour plus irrégulier et l'on peut voir, à la partie antérieure, deux protubérances arrondies, ébauches des canaux déférents et des glandes annexes. La partie terminale de l'intestin postérieur s'élargit et prend la forme de l'ampoule rectale. La petite pièce chitineuse qui fermait l'intestin a disparu.

Vers le 6^e jour les testicules sont un peu plus incurvés et sont rattachés au disque génital par un canal court et large. Les ébauches des glandes annexes se détachent plus nettement du disque génital (fig. 8).

A partir du 7^e jour, les testicules s'incurvent nettement, tout en conservant leur forme ovoïde. Les canaux déférents s'allongent et les glandes annexes deviennent bien visibles (fig. 9).

Au 8^e jour toute l'organisation générale de l'appareil génital interne de l'adulte est parfaitement reconnaissable. Les testicules sont bien incurvés et mesurent 1.200 μ environ de longueur. Les canaux déférents pairs qui font un tour de spire avant de se détacher du testicule sont encore très courts dans leur partie libre (200 μ de long), ainsi que les glandes annexes (300 μ de long). Le canal déférent commun est bien détaché du disque génital et mesure 300 à 400 μ . L'ampoule rectale est bien visible. Le disque génital, qui forme une masse bilobée postérieurement, s'organise pour donner naissance à l'appareil copulateur dont certaines ébauches, en particulier les forcipules supérieurs, sont reconnaissables dès le 9^e jour (fig. 10 et 11).

A partir de ce moment on constate un allongement en même temps qu'un enroulement du testicule, ainsi qu'un accroissement de la longueur des canaux déférents pairs et impair et des glandes annexes, tandis que le disque génital s'organise de plus en plus en appareil phallique. Les papilles de l'ampoule rectale sont visibles dès le 10^e jour (fig. 12, 13 et 14).

Au 13^e jour, les testicules forment 2 tours complets et mesurent 2.500 μ de long sur 300 μ de large environ. Les canaux déférents pairs atteignent 600 μ de long dans leur portion libre et le canal déférent commun 1.400 μ . Les glandes annexes ont 1.500 μ de long environ. Toutes les différentes parties de l'appareil

copulateur sont bien formées (épandrium, forcipules supérieurs, forcipules inférieurs, phallosome), mais aucune pièce n'est chitinisée (fig. 15).

A partir du 14^e, 15^e jour l'accroissement en longueur des testicules est faible, mais ils s'enroulent de plus en plus en même temps que leurs tiers antérieurs et postérieurs s'amincissent. Les autres parties de l'appareil génital interne (canaux déférents pairs et impairs, glandes annexes) continuent de s'allonger (fig. 17 et 18).

C'est vers le 15^e jour que les yeux se colorent en jaune-orange. Le tégument n'est pas pigmenté et ne porte pas de soie visible macroscopiquement. Par contre des soies très fines, incolores, sont visibles, au microscope, sur les pièces de l'appareil phallique qui en comportent normalement chez l'imago.

Vers le 18^e jour, le tégument définitif est constitué, sous le tégument mince et fragile de la pupa *sensu stricto*. Ce tégument définitif, bien que non pigmenté et non chitinisé, est beaucoup plus résistant que le précédent et rend la dissection plus délicate. Cependant les différentes pièces de l'appareil phallique peuvent, de ce fait, être plus aisément individualisées. L'appareil génital interne ne va plus subir de modifications morphologiques importantes, du moins en ce qui concerne l'accroissement de longueur de ses différentes parties.

Au 20^e jour, l'extrémité postérieure des testicules s'est très amincie et ne contient plus de gamètes. Cette portion est cependant encore très courte (200 μ de long environ) (fig. 20).

Vers le 24^e jour, les yeux et les ocelles ont acquis leur couleur définitive. Le tégument, qui n'est pas encore pigmenté, est couvert de soies noires. Les pattes, les antennes et la trompe sont colorées en brun clair. Les ailes sont pourvues de petites soies noires.

Chez la femelle, les spermathèques sont colorées en brun clair. Par contre, chez le mâle, les testicules n'ont pas acquis leur coloration brune. Celle-ci n'apparaît que vers le 26^e, 27^e jour et débute par l'extrémité postérieure. Au 28^e jour cette enveloppe brune recouvre les deux tiers du testicule. La partie initiale du testicule a acquis sa longueur définitive et ne contient aucun gamète. L'appareil phallique est complètement formé, chitinisé. L'imago est prêt à éclore.

IV. LA SPERMATOGENESE

A. Technique

La spermatogénèse a été étudiée, au cours des dissections effectuées chez des pupes d'âge croissant, par examen des testicules, coloration à l'orcéine lacto-propionique et écrasement entre lame et lamelle. Il n'a pas été effectué de coupes histologiques, les renseignements obtenus par la méthode d'écrasement ayant été suffisamment précis pour permettre de suivre le déroulement de ce processus.

B. Formation des gonades chez l'embryon

On ne trouve dans la littérature, pourtant abondante, publiée sur les glossines, aucune étude complète concernant l'organogénèse de l'embryon. Cependant HAGAN (1) a publié, en 1951, quelques-unes des données qu'il a pu recueillir personnellement sur le développement de l'embryon, chez *Glossina tachinoides*, grâce à l'élevage réalisé à l'époque par NASH, en Afrique.

Nous lui avons emprunté les renseignements suivants concernant la formation des gonades chez l'embryon et au début du premier stade larvaire. HAGAN a effectué des séries de coupes longitudinales et transversales n'intéressant ni le chorion, ni les annexes extra-embryonnaires.

« Les cellules qui constituent l'ébauche génitale sont groupées en deux massifs cellulaires lâches et irréguliers situés latéralement dans la région mésodermique, soit au niveau du tiers postérieur. Dans une section longitudinale d'un embryon venant d'achever la formation de l'intestin moyen, ces massifs cellulaires s'étendent depuis la marge de l'anus, au niveau de l'avant dernier segment, vers l'avant, au-dessus du tiers postérieur du vitellus. Les cellules génitales sont plus grandes que les cellules du mésoderme; leur cytoplasme est plus granuleux et plus fortement coloré. Vers le milieu du stade embryonnaire ces masses cellulaires se déplacent vers l'avant jusqu'à ce qu'elles soient situées en totalité au-dessus de la partie postérieure de l'intestin moyen. En même temps elles se rassemblent en amas cylindriques plus compacts et plus courts. Des cellules du mésoderme les enveloppent étroitement et forment autour d'elles une fine membrane monocellulaire. A un stade embryonnaire plus avancé, ou au cours du premier stade larvaire, des feuilletts monocellulaires du tissu méso-

dermique s'infiltrant à l'intérieur des amas, séparant la gonade en plusieurs chambres renfermant chacune un groupe de cellules germinales. Celles-ci ont un grand noyau clair, contenant une masse dense de chromatine centrale. Le noyau est toujours excentrique. Les gonades ne sont pas fonctionnelles à ce stade et sont situées, latéralement, entre les segments 9 et 11. »

C. Spermatogénèse chez la puppe

Chez la puppe âgée de 1 à 2 jours le testicule contient de nombreuses cellules rondes, à noyau dense, qui se multiplient activement. Quelques jours plus tard, ces cellules, du fait de leur multiplication, se tassent les unes contre les autres et acquièrent un contour polygonal (fig. 25). La chromatine est moins dense, plus irrégulière. Chez quelques individus, dès le 5^e jour, on trouve, parmi ces cellules, des cellules en méiose. La division méiotique gagne en 2 ou 3 jours la totalité des cellules du testicule; les spermatogonies, groupées en cystes parfaitement visibles à travers l'enveloppe testiculaire dès le 5^e jour, donnent toutes naissance, presque en même temps, aux spermatocytes de premier ordre, puis aux spermatocytes de deuxième ordre et aux spermatides, qui sont pratiquement tous formés entre les 10^e et 12^e jours. Toutes les cellules d'un même cyste évoluent en même temps. Les différents cystes d'un même testicule évoluent successivement, mais dans un temps relativement court, n'excédant pas quatre à cinq jours, suivant l'espèce et les individus. La maturation commence par l'extrémité postérieure; ainsi, dans les testicules d'une puppe de *G. tachinoides* âgée de 8 jours, nous avons dénombré une quarantaine de cystes par testicule, mesurant en moyenne 95 μ de diamètre. Les dix ou douze cystes situés à l'extrémité antérieure du testicule contiennent des spermatocytes; les suivants contiennent des spermatides à queue courte.

Les cystes, qui sont d'abord sphériques, acquièrent bientôt une forme allongée, avec une portion large et courte, et une « queue » qui s'allonge en même temps que le flagelle des spermatides (fig. 26).

La spermiogénèse se déroule entre le 11^e jour et le 20^e jour, approximativement. Les spermatides jeunes apparaissent, chez les différentes espèces, vers le 11^e - 12^e jour. Ils ont un flagelle relativement court et épais, une tête

ronde avec un gros noyau dont la chromatine forme un réseau lâche (fig. 27).

Le flagelle s'allonge dans les jours suivants et l'on trouve, dès le 12^e - 13^e jour, des faisceaux de spermatides à tête ronde et à long flagelle (fig. 28). La paroi des cystes n'est plus visible à ce stade.

Le noyau se condense par la suite et la tête du spermatide prend une forme grossièrement triangulaire (fig. 29). Vers le 18^e jour, la tête est lancéolée et relativement large (fig. 30 et 31).

Les spermatozoïdes paraissent mûrs dès le 20^e - 21^e jour. Leur tête est très allongée, très mince et ne se distingue pas, en l'absence de coloration spéciale, du flagelle (fig. 32). Il nous a cependant été possible de mesurer sa longueur, chez une puppe de *G. austeni* âgée de 20 jours, après coloration au Feulgen. La tête du spermatozoïde mesure, chez cette espèce, de 35 à 40 μ de long sur quelques dixièmes de μ en largeur. Le flagelle est très long (plusieurs centaines de μ), mais n'a pu être mesuré avec précision.

Les spermatozoïdes, groupés en longs faisceaux plus ou moins enchevêtrés, remplissent totalement le testicule (fig. 24). La spermiogénèse est pratiquement achevée et les spermatozoïdes ne subissent apparemment plus de modifications importantes par la suite.

D. Méiose

La méiose se produit, chez les pupes mâles des quatre espèces qui ont été étudiées, entre le 6^e et le 9^e jour, en moyenne. C'est à ce moment que l'on trouve, dans les testicules, le plus grand nombre de cellules en division méiotique. Le processus se déroulant dans un temps bref, au même moment, chez toutes les cellules sexuelles, il est difficile de suivre son déroulement chronologique et d'en repérer les phases successives. Il nous a cependant été possible, par la méthode de coloration à l'orcéine lacto-propionique et d'écrasement du testicule entre lame et lamelle, de photographier certaines de ces phases, que nous présentons ici (fig. 33 à 54) (*).

(*) Nous devons ajouter que les recherches que nous avons effectuées par cette méthode ne nous ont pas permis de différencier, jusqu'ici, les autosomes et les chromosomes sexuels. Il ne semble, apparemment, pas y avoir de différence morphologique entre les deux membres d'une même paire, quelle que soit la paire.

Toutes ces figures confirment les recherches effectuées précédemment sur les chromosomes somatiques. Chez *G. tachinoides*, nous avons dénombré 6 chromosomes somatiques, parmi lesquels on peut reconnaître, bien que les différences de taille soient faibles, une paire de grands chromosomes, une paire de moyens chromosomes et une paire de petits chromosomes. On repère nettement ces trois paires dans la fig. 33, qui représente une anaphase I chez une pupe de 9 jours et dans la fig. 34 qui représente une prophase II chez une pupe du même âge.

G. fuscipes fuscipes possède également 6 chromosomes somatiques, avec une paire de grands, une paire de moyens et une paire de petits chromosomes; les différences de taille entre chaque paire sont peu importantes. On retrouve ces trois paires dans les fig. 35 à 40, qui représentent, respectivement, des figures de prophase I (stades pachytène et diacinèse) et d'anaphase I chez des pupes âgées de 9 jours.

G. morsitans morsitans possède 10 chromosomes, que l'on peut grouper en trois paires de grands chromosomes, avec de faibles différences de taille d'une paire à l'autre, et deux paires de très petits chromosomes. Les cinq paires ont été mises en évidence dans les testicules de pupes âgées de 5, 6 et 7 jours (fig. 41 à 46), où l'on remarque les stades pachytène et diacinèse de la prophase I et des figures d'anaphase I.

Chez *G. austeni*, les cellules somatiques possèdent 14 chromosomes, dont trois paires de grands chromosomes, avec de faibles différences de taille d'une paire à l'autre, et quatre paires de très petits chromosomes. Les fig. 47 à 51 montrent, dans les testicules de pupes âgées de 8 jours et de 10 jours, les stades zygotène, diplotène et diacinèse de la prophase I. Les fig. 52 à 54 représentent, chez des pupes de 8 à 9 jours, des figures de métaphase et d'anaphase I.

Le stade le plus précoce de la prophase I qui ait pu être mis en évidence est le début du stade zygotène, chez une pupe de *G. austeni* âgée de 9 jours (fig. 48). On remarque, dans les paires déjà individualisées, l'étroit appariement des chromosomes qui, en s'enroulant les uns autour des autres, montrent des zones plus denses alternant avec des zones plus claires.

Au stade suivant (stade pachytène), les paires, qui sont déjà plus condensées, ont tendance à se séparer. On reconnaît la nature double de chaque chromosome, les chromatides tendant à s'écarter l'un de l'autre et donnant un contour irrégulier au chromosome (fig. 35, 41, 42).

Au stade diplotène (fig. 47), les chromatides d'une même paire, par suite de leur condensation de plus en plus grande et de leur disposition torsadée, cessent d'être bien distincts. Les chromosomes forment des chiasmas apparaissant comme des points de contact.

Le stade diacinèse est bien reconnaissable et bien représenté dans les fig. 36, 43, 44, 46, 50 et 51. La condensation des chromosomes est presque maximale. Les chromatides, fortement enroulés et accolés, ne se distinguent plus l'un de l'autre. Les paires se présentent sous la forme de boucles successives se rejoignant au niveau des chiasmas.

La métaphase I est représentée dans les fig. 52 et 53. Dans la fig. 53, les chromosomes sont disposés sur le plan équatorial; certaines paires sont encore réunies par les chiasmas. La fig. 52 montre une fin de métaphase I. La plupart des chromosomes se sont séparés et ont rejoint le pôle correspondant. Une paire est encore réunie par un chiasma qui a glissé vers l'extrémité libre des chromosomes.

Les fig. 33, 37, 38, 39, 40, 45, 46 et 54, montrent différents stades de l'anaphase I où l'on reconnaît la nature double de chaque chromosome, nettement séparés, dans certaines figures en particulier, en deux chromatides. Le fuseau achromatique est bien visible sur certaines figures. Les fig. 39 et 40 sont plus difficiles à interpréter. Un examen attentif montre cependant la nature double de chaque chromosome, et nous pensons que ces figures représentent une fin de métaphase I ou un début d'anaphase I.

La fig. 34 représente probablement une prophase II, où chaque chromosome est divisé en deux chromatides bien séparés, sauf à l'emplacement des centromères. Il pourrait toutefois s'agir du stade diplotène de la prophase I, bien qu'on ne reconnaisse pas la nature double des chromosomes.

Les phases suivantes de la division méiotique (métaphase et anaphase II) doivent se dérouler

dans un temps bref; elles n'ont pas pu être mises en évidence dans nos préparations.

V. CONCLUSIONS

La formation, le développement de l'appareil génital mâle, ainsi que la spermatogénèse, se déroulent, chez les glossines, en totalité pendant la période pupale.

Lorsque la larve est pondue, à la fin du III^e stade, elle possède déjà des testicules, dont la formation a débuté dès le stade embryonnaire. Elle ne possède par contre aucun gonoducte, pas plus que des glandes annexes ou un appareil copulateur, tous ces organes n'étant que potentiellement présents dans le disque génital.

Le testicule ne contient que des cellules germinales, dérivées des cellules polaires de l'embryon.

Ce n'est qu'à partir de la fin du IV^e stade larvaire, qui a une durée de 4 à 5 jours, et se déroule à l'intérieur du puparium, que l'appareil génital commence à s'organiser. Les spermatogonies se sont multipliées et vont donner vers le 6^e ou 7^e jour les spermatocytes de premier ordre. La méiose se produit entre les 6^e et 9^e jours, et les spermatides jeunes apparaissent dès le 11^e jour. Pendant cette période, les testicules se sont allongés et

commencent à s'enrouler, tandis que les canaux déférents, les glandes annexes et l'appareil phallique se différencient à partir du disque génital.

Dans les jours suivants, pendant que l'imago s'organise peu à peu, les organes génitaux acquièrent leurs formes et leurs dimensions définitives, tandis que la spermiogénèse transforme les jeunes spermatides en spermatozoïdes. Ceux-ci sont tous formés vers le 20^e jour, alors que l'imago n'a pas encore totalement achevé sa métamorphose.

Lorsque le mâle adulte éclôt, vers le 30^e jour, la spermatogénèse est totalement achevée. Le testicule ne contient que des spermatozoïdes mûrs, et sera incapable, au cours de la vie imaginale, de renouveler le stock de gamètes acquis au cours de la période nymphale.

Ce processus se déroule de façon identique chez les quatre espèces de glossines qui ont été étudiées. Il est vraisemblable qu'il en est de même chez toutes les espèces de ce genre. Signalons enfin que Miss HARING et MAC FRASER (2) ont présenté, au 8^e séminaire sur les Trypanosomiasés, à Londres, un court article dans lequel ces auteurs décrivent, chez *G. austeni*, quelques-unes des étapes que nous relatons ici.

Institut d'Elevage et de Médecine
vétérinaire des Pays tropicaux.
Laboratoire d'Entomologie.

LEGENDES DES FIGURES (*)

ABREVIATIONS

a	anus
amp. rec.	ampoule rectale
app. ph	appareil phallique
c. d.	canal déférent
c. d. c.	canal déférent commun
c. éj.	canal éjaculateur
d. g.	disque génital
f. m.	fibres musculaires
fu	furca
gl. a.	glande annexe
go	gonopore

i. m. a.	intestin moyen antérieur
i. m. p.	intestin moyen postérieur
i. p.	intestin postérieur
pap. rec.	papille rectale
rec.	rectum
s. éj.	sclérite éjaculateur
s. st.	sac stomacal
test.	testicule
t. m.	tube de Malpighi
v. s.	vésicule séminale

PLANCHE I

Fig. 1. — *G. fuscipes fuscipes* — Appareil génital mâle de l'adulte.

Fig. 2. — *G. fuscipes fuscipes* — Phallosome (d'après A. de BARROS MACHADO, 1954).

PLANCHE II

Fig. 3. — Extrémité postérieure d'une pupe, vue par la face ventrale.

Fig. 4. — Pupa de *G. tachinoides* — Anatomie interne (1/2 schématique).

Fig. 5. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 4 jours. Rapports du disque génital avec l'intestin postérieur et la saillie interne des lobes polypneustiques.

PLANCHE III

Fig. 6. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 3 jours — Testicules et disque génital.

Fig. 7. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 4 jours — Testicules et disque génital.

Fig. 8. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 6 jours — Testicules et disque génital.

PLANCHE IV

Fig. 9. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 7 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 10. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 8 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 11. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 9 jours — Appareil génital mâle.

PLANCHE V

Fig. 12. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 10 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 13. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 11 jours — Appareil génital mâle.

PLANCHE VI

Fig. 14. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 12 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 15. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 13 jours — Appareil génital mâle.

PLANCHE VII

Fig. 16. — *G. tachinoides* — Stades successifs du développement testiculaire chez la pupa entre 3 et 13 jours.

PLANCHE VIII

Fig. 17. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 14 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 18. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 15 jours — Appareil génital mâle

Fig. 19. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 17 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 20. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 20 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 21. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 24 jours — Appareil génital mâle.

Fig. 22. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 27 jours — Appareil génital mâle.

PLANCHE IX

Fig. 23. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 4 jours — Rectum et disque génital — Noter la pièce chitineuse à l'extrémité du rectum.

Fig. 24. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 21 jours — Testicule — Remarquer les échelons de spermatozoïdes.

Fig. 25. — *G. morsitans morsitans* — Pupa âgée de 7 jours — Spermatogonies (× 430).

PLANCHE X

Fig. 26. — *G. tachinoides* — Pupa âgée de 10 jours — Cystes.

(*) Les dessins ont été exécutés, sauf mention particulière, au tube à dessiner B.B.T. adapté à la loupe binoculaire Stéréovar B.B.T., à partir de matériel fraîchement disséqué, avant coloration et inclusion. Les microphotographies ont été prises sur film Kodak Plus X Pan avec un appareil Exa 500 et une chambre microphotographique Mka² Wild.

Fig. 27. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 12 jours. Spermatides à tête ronde (x 860).

Fig. 28. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 12 jours. Faisceaux de spermatides à tête ronde (x 430).

PLANCHE XI

Fig. 29. — *G. tachinoides* — Pupe âgée de 12 jours — Spermatides à tête triangulaire (x 860).

Fig. 30. — *G. tachinoides* — Pupe âgée de 17 jours — Spermatides à tête lancéolée (x 430).

Fig. 31. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 18 jours. Spermatides à tête lancéolée (x 860).

PLANCHE XII

Fig. 32. — *G. tachinoides* — Pupe âgée de 28 jours — Spermatozoïdes (x 860).

Fig. 33. — *G. tachinoides* — Pupe âgée de 9 jours — Anaphase I (x 860).

Fig. 34. — *G. tachinoides* — Pupe âgée de 9 jours — Prophase II (x 860).

Fig. 35. — *G. fuscipes fuscipes* — Pupe âgée de 9 jours — Prophase I (pachytene) (x 860).

Fig. 36. — *G. fuscipes fuscipes* — Pupe âgée de 9 jours — Prophase I (diacinese) (x 860).

Fig. 37. — *G. fuscipes fuscipes* — Pupe âgée de 9 jours — Anaphase I (x 860).

Fig. 38. — *G. fuscipes fuscipes* — Pupe âgée de 9 jours — Anaphase I (x 860).

PLANCHE XIII

Fig. 39. — *G. fuscipes fuscipes* — Pupe âgée de 9 jours — Anaphase I (x 860).

Fig. 40. — *G. fuscipes fuscipes* — Pupe âgée de 9 jours — Anaphase I (x 860).

Fig. 41. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 5 jours — Prophase I (pachytene) (x 860).

Fig. 42. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 7 jours — Prophase I (pachytene) (x 860).

Fig. 43. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 6 jours — Prophase I (diacinese) (x 860).

Fig. 44. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 6 jours — Prophase I (diacinese) (x 860).

Fig. 45. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 6 jours — Anaphase I (x 860).

Fig. 46. — *G. morsitans morsitans* — Pupe âgée de 5 jours — Anaphase I (x 860).

Fig. 47. — *G. austeni* — Pupe âgée de 8 jours — Prophase I (diplotene) (x 1.180).

PLANCHE XIV

Fig. 48. — *G. austeni* — Pupe âgée de 9 jours — Prophase I (zygotene) (x 860).

Fig. 49. — *G. austeni* — Pupe âgée de 8 jours — Prophase I (diacinese) (x 1.180).

Fig. 50. — *G. austeni* — Pupe âgée de 10 jours — Prophase I (diacinese) (x 860).

Fig. 51. — *G. austeni* — Pupe âgée de 10 jours — Prophase I (diacinese) (x 1.700). La 3^e grande paire n'est pas dans le plan de l'image (cf. fig. 50).

Fig. 52. — *G. austeni* — Pupe âgée de 8 jours fin de Métaphase I (x 1.180).

Fig. 53. — *G. austeni* — Pupe âgée de 9 jours — Métaphase I (x 1.700).

Fig. 54. — *G. austeni* — Pupe âgée de 9 jours — Métaphase et anaphase I (x 860).

PLANCHE I

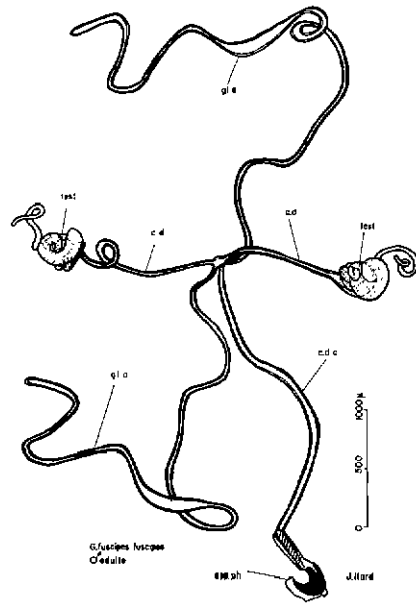
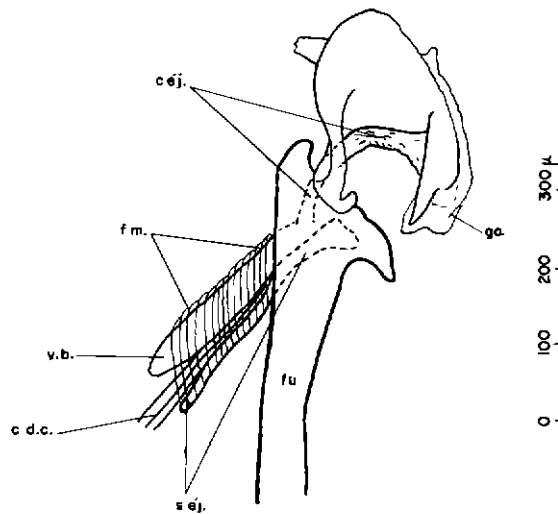


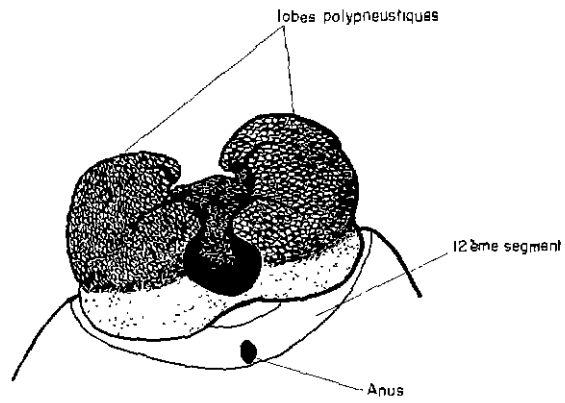
Fig. 1



d'après A de Barros Machado (1954)

Fig. 2

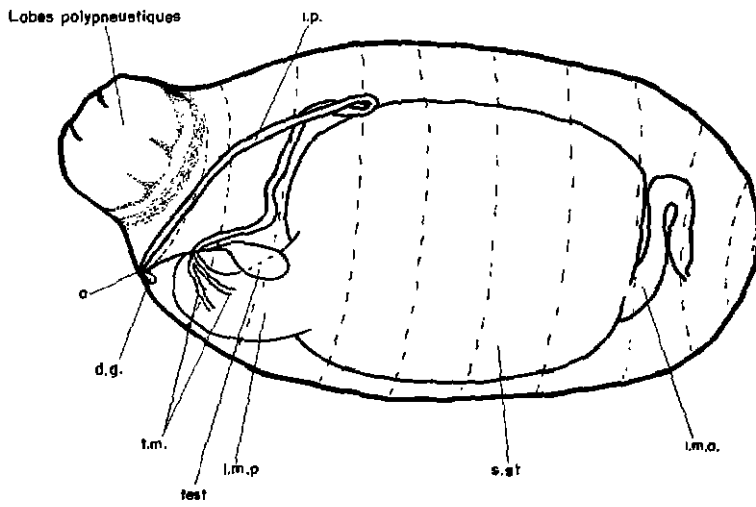
PLANCHE II



J. Itard

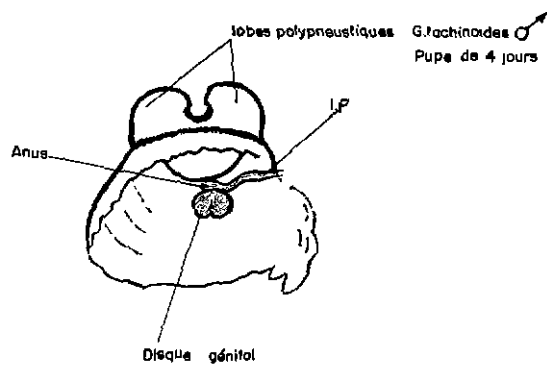
Fig. 3

FACE DORSALE



FACE VENTRALE

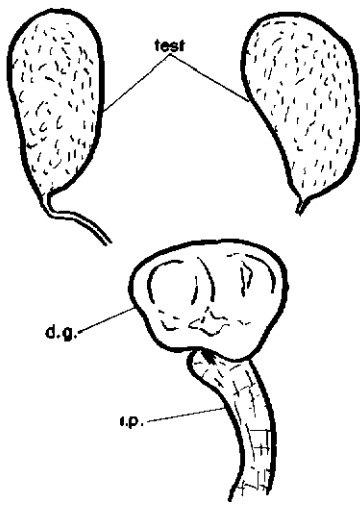
Fig. 4



J. Itard

Fig. 5

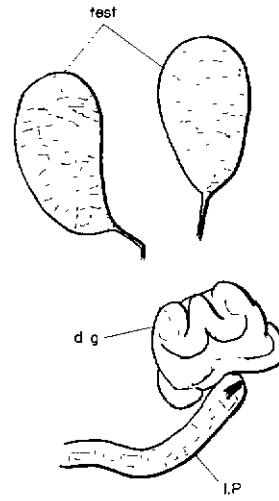
PLANCHE III



J. Itard

Fig. 6

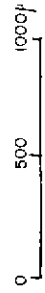
G. tachinoides ♂
Pupa de 3 jours



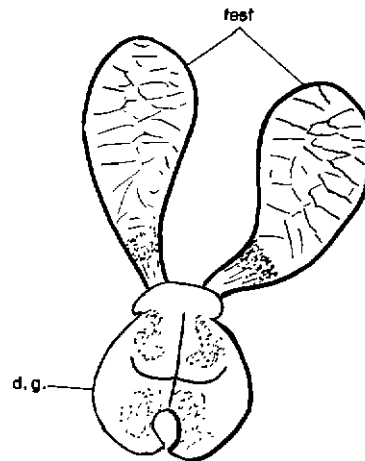
J. Itard

Fig. 7

G. tachinoides ♂
Pupa de 5 jours



G. tachinoides ♂
Pupa de 6 jours



J. Itard

Fig. 8

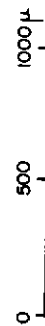
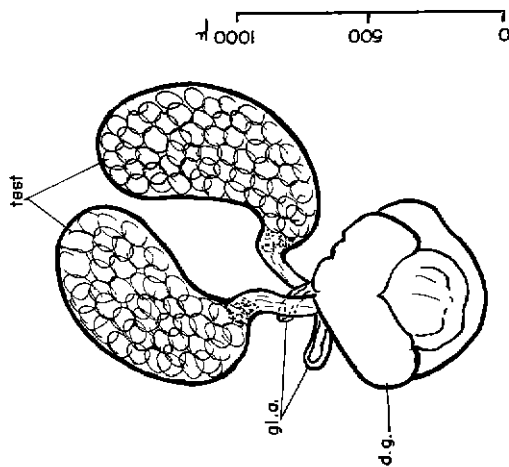


PLANCHE IV

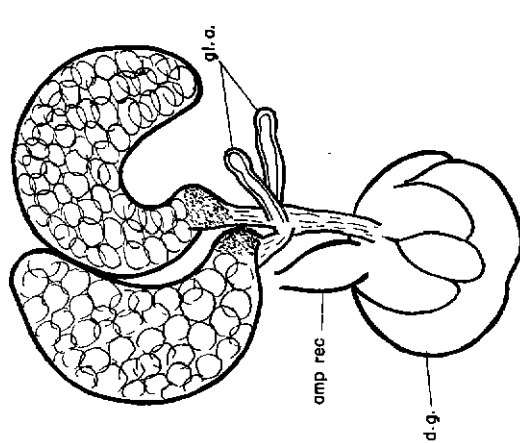
G. tachinoides ♂
Pupe de 7 jours



J. Itard

Fig. 9

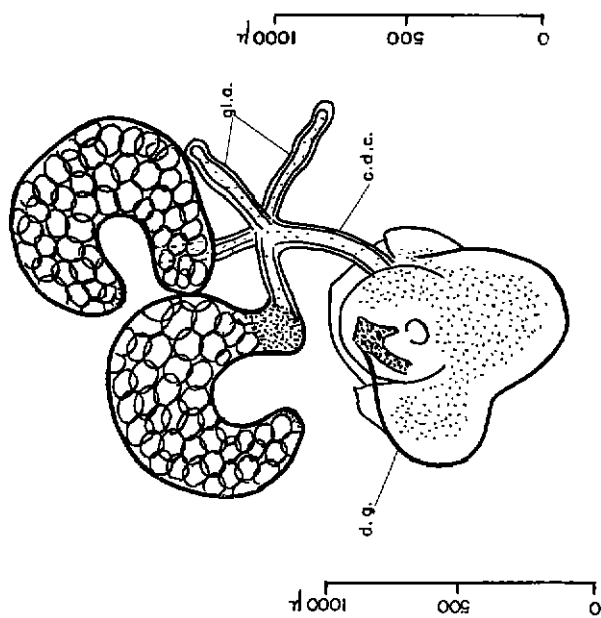
G. tachinoides ♂
Pupe de 8 jours



J. Itard

Fig. 10

G. tachinoides ♂
Pupe de 9 jours

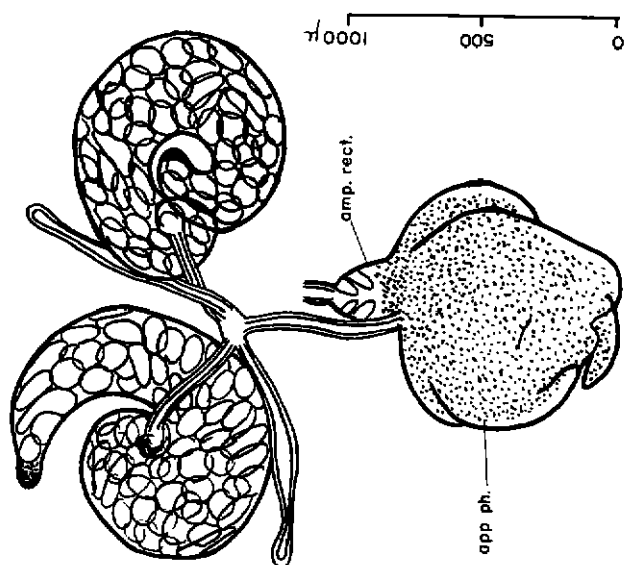


J. Itard

Fig. 11

PLANCHE V

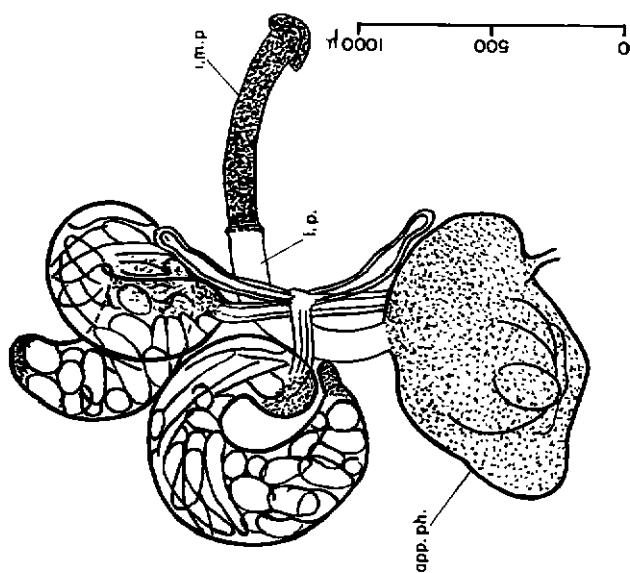
G. tachinoides ♂
Pupe de 11 jours



J. Harid

Fig. 13

G. tachinoides ♂
Pupe de 10 jours



J. Harid

Fig. 12

G. tachinoides ♂
Pupe de 12 jours

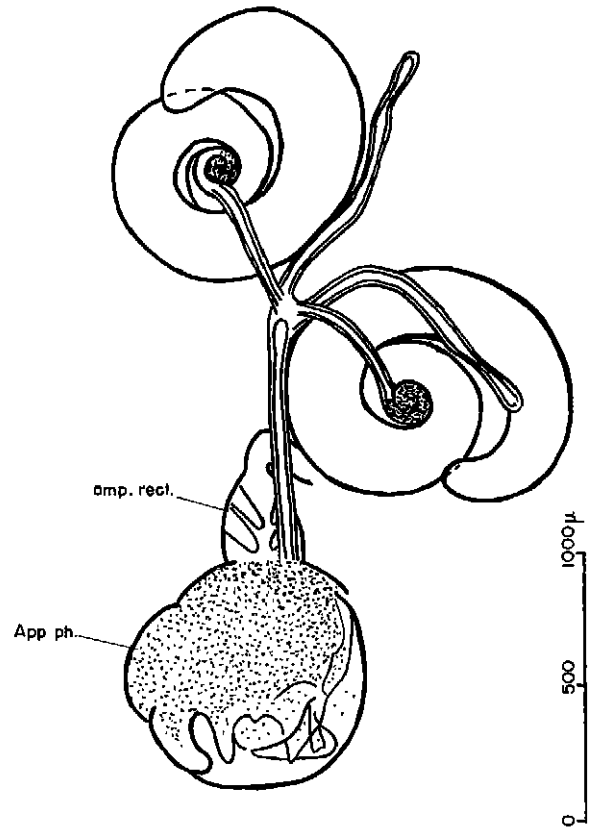
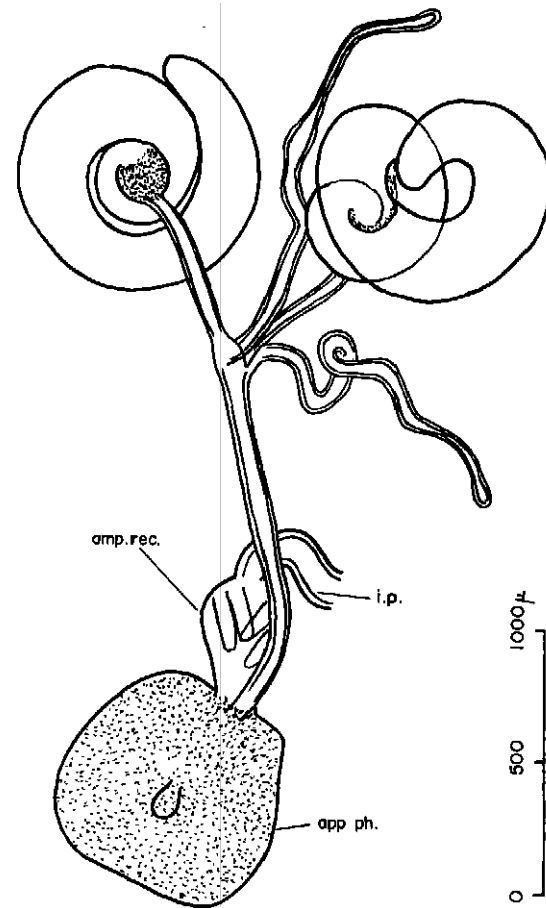


Fig. 14

G. tachinoides ♂
Pupe de 13 jours



J. Itard

Fig. 15

PLANCHE VII

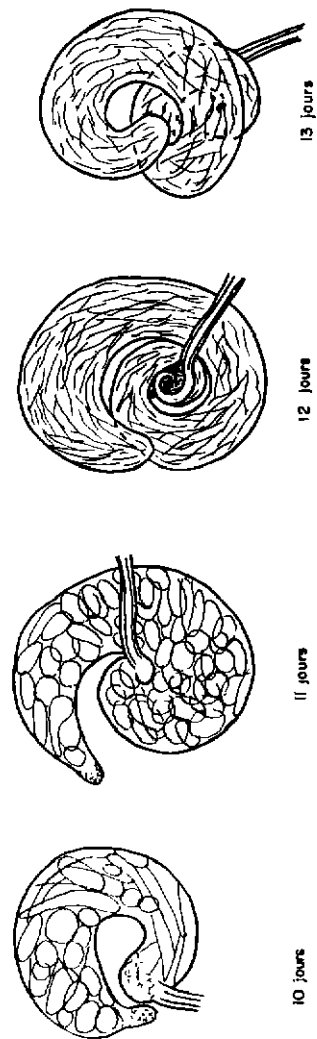
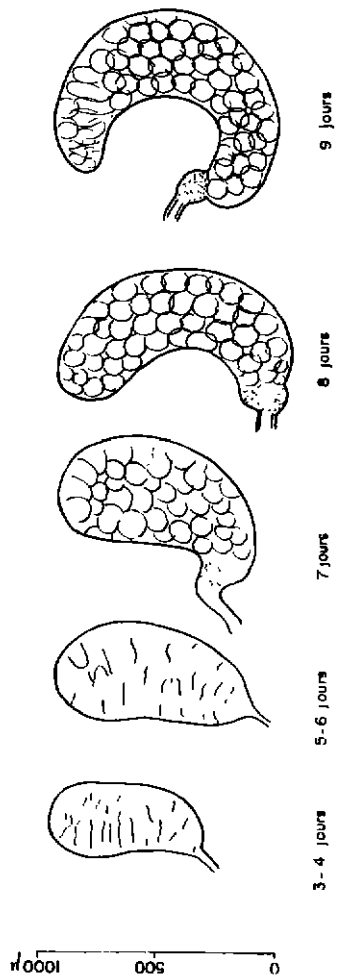


Fig. 16

J. Herd

PLANCHE VIII

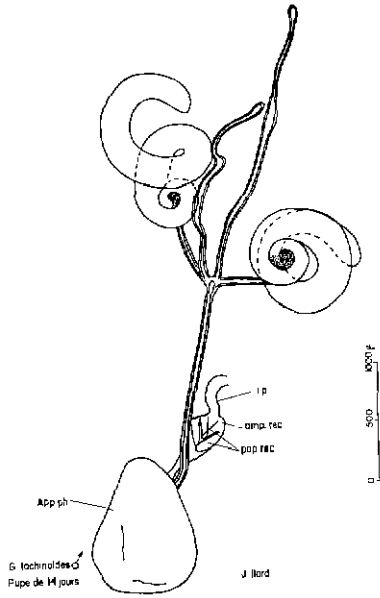


Fig. 17

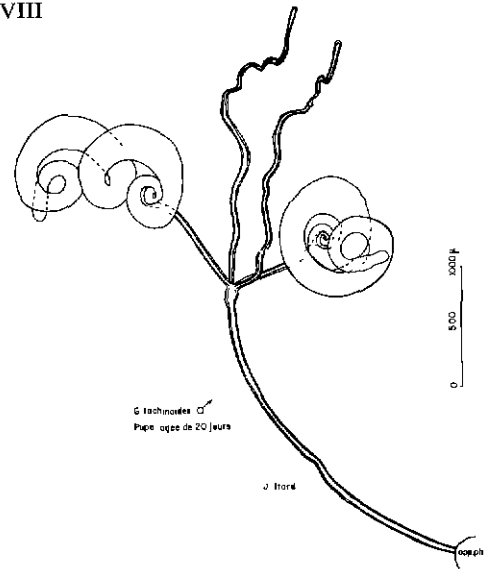


Fig. 20

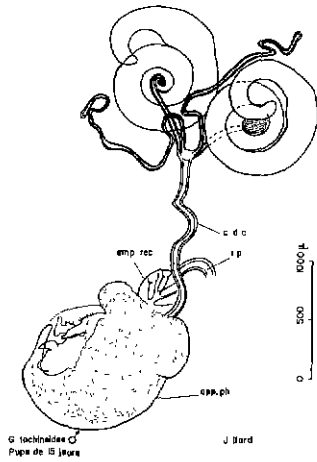


Fig. 18

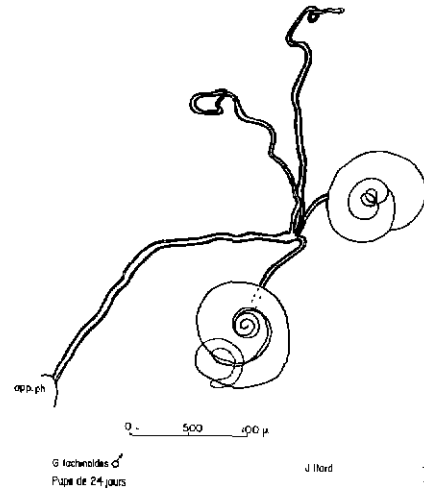


Fig. 21

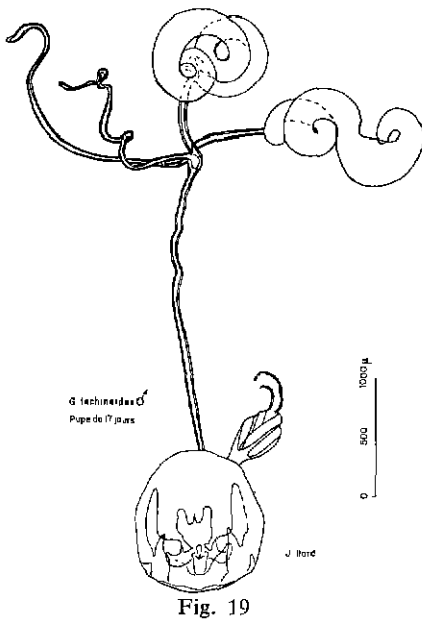


Fig. 19

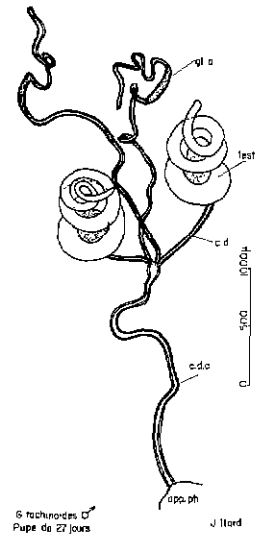


Fig. 22

PLANCHE IX



Fig. 23

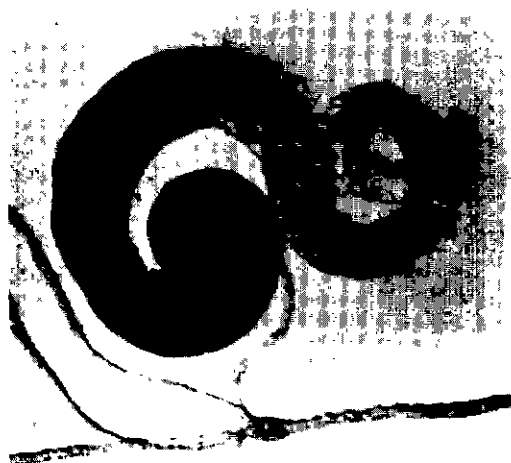


Fig. 24



Fig. 25

PLANCHE X



Fig. 26

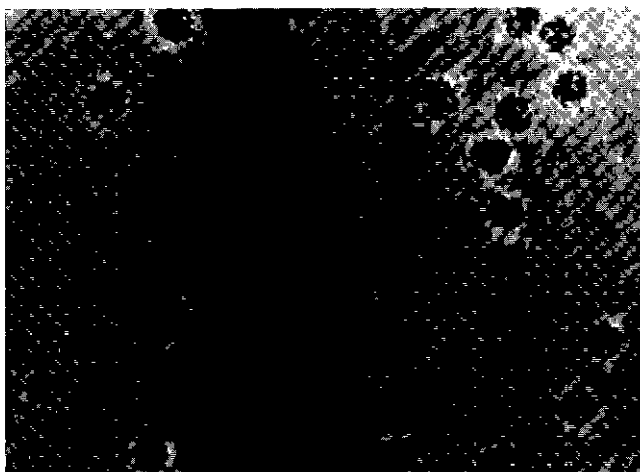


Fig. 27



Fig. 28

PLANCHE XI



Fig. 29

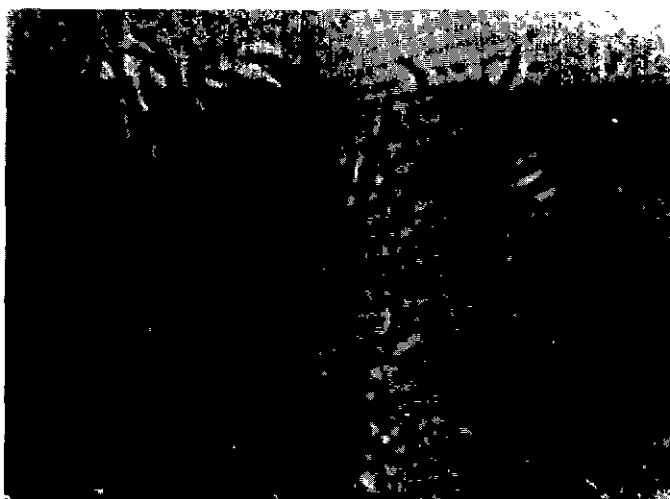


Fig. 30

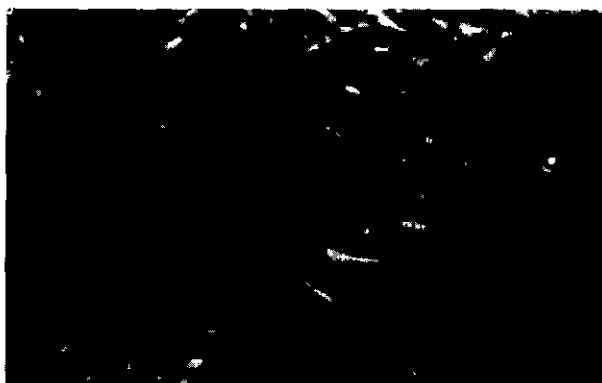


Fig. 31

PLANCHE XII



Fig. 32



Fig. 33

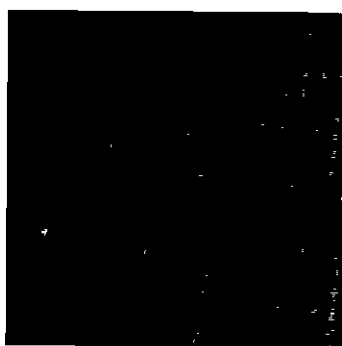


Fig. 34

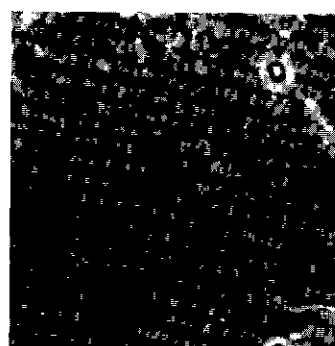


Fig. 35

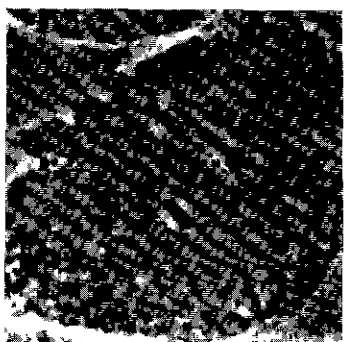


Fig. 36

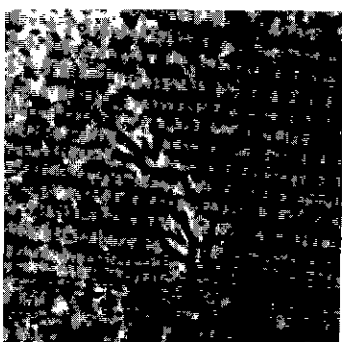


Fig. 37

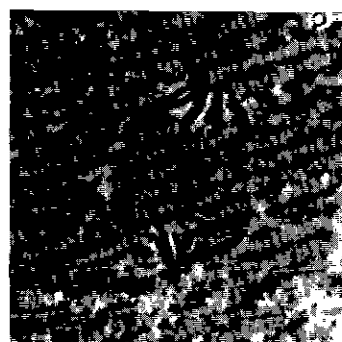


Fig. 38

PLANCHE XIII



Fig. 39



Fig. 40



Fig. 41



Fig. 42



Fig. 43



Fig. 44

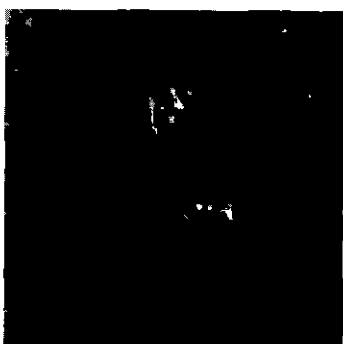


Fig. 45



Fig. 46

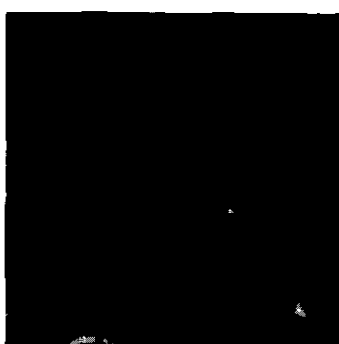


Fig. 47

PLANCHE XIV

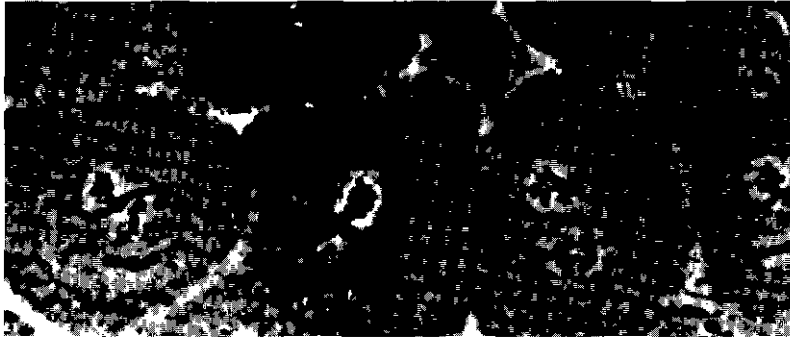


Fig. 48

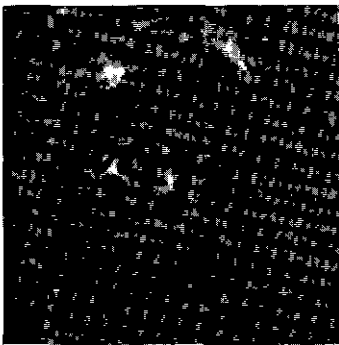


Fig. 49

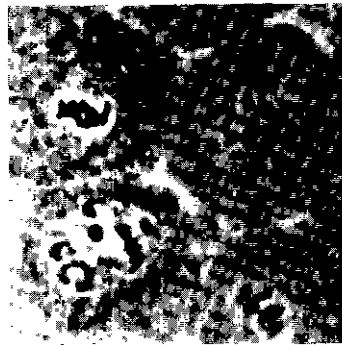


Fig. 50

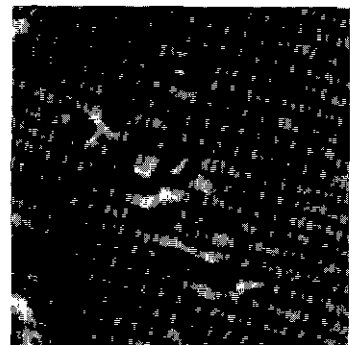


Fig. 51

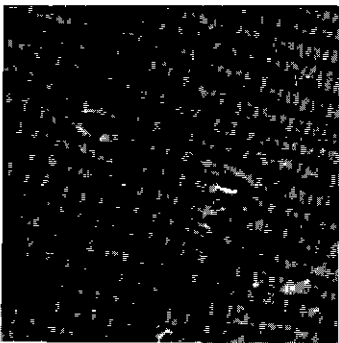


Fig. 52



Fig. 54

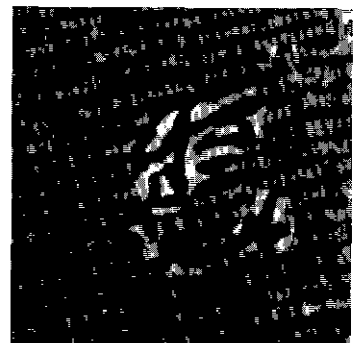


Fig. 53

SUMMARY

Male reproductive organs of *Glossina* (« *Diptera - Muscidae* »)*Stages of formation in pupae**Spermatogenesis*

The author studies formation of genital organs of males and spermatogenesis in four species of *Glossina* reared at Maisons-Alfort. At the time of larviposition, the larva has two testes and one imaginal genital disc. Within pupal life, whose average length is 30 days, testes enlarge and coil, whereas gonoducts, accessory glands and hypopygium are formed from the genital disc. Meiosis occurs between the 6th and 9th day and spermatozoa have matured by the 20th day. When adult male emerges, it contains the entire supply of mature sperm and spermatozoa will not be formed again during the adult life.

RESUMEN

El aparato reproductor macho de las Glosinas (« *Diptera - Muscidae* »)*Los fases de su formación en la pupa**La espermatogenesis*

El autor ha emprendido un estudio sobre la formación de los órganos genitales machos y la espermatogenesis en cuatro especies de glosinas criadas en Maisons-Alfort. Al rato de la puesta, la larva posee dos testículos y un disco imaginal genital. Durante el periodo pupal, que se hace largo 30 días por término medio, los testículos se alargan y se enrollan sobre ellos mismos, mientras los conductos espermáticos, las glándulas anejas y el aparato reproductor exterior se organizan a partir del disco genital. Se produce la meiosis entre los 6º y 9º días y los espermatozoides se hacen maduros hacia el 20º día. Cuando el macho adulto nace, posee una provision de espermatozoides que ya no se regenerará durante la vida imaginal.

BIBLIOGRAPHIE

- HAGAN (H. R.), « Embryology of the viviparous insects », New York. The Ronald Press Co, 1951. 472 p.
- HARING (A) et Mac D. FRASER (M.), « Spermatogenesis of *Glossina austeni* », *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1968, **62** (1). 125.
- ITARD (J.), « Chromosomes de Glossines (*Diptera - Muscidae*) », *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1966, **263**, 1395-1397.
- ITARD (J.), « Observations sur les caryotypes de quatre espèces de glossines », *I.S.C.T.R.*, 12^e réunion, BANGUI, 1968 (sous presse).
- ITARD (J.), « Les caryotypes de six espèces de glossines », 1^{er} Symposium sur l'élevage en laboratoire de la mouche tsé-tsé et ses applications pratiques. LISBONNE, 1969 (sous presse).
- ITARD (J.), MAILLOT (L.), BRUNET (J.) et GIRET (M.), « Observations sur un élevage de *Glossina tachinoides* West. après adoption du lapin comme animal hôte », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1968, **21** (3), 387-403.
- MACHADO (A. de BARROS), « Revision systématique des glossines du groupe *palpalis* (*Diptera*) », *Publicações Culturais da companhia de diamantes de Angola*. n° 22. LISBONNE, 1954, 189 pages.
- MINCHIN (E. A.), « Report on the anatomy of Tsetse fly (*Glossina palpalis*) », *Proc. roy. Soc. Ser. B.*, 1905, **76**, 531-547.
- O.M.S., « Cytogenetics of vectors of disease of man », Série Rapports techniques n° 398. GENEVE, 1968.
- ROUBAUD (E.), « La *Glossina palpalis*. Sa biologie, son rôle dans l'étiologie des trypanosomiasés ». Thèse de Doctorat es Science, PARIS, 1909.
- STUHLMANN (F.), « Beiträge zur kenntniss der Tsetse fliege (*Glossina fusca* und *Gl. tachinoides*) », *Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*, Berlin, 1907, **26**, 301-383.